

Дифференциальная токсичность наночастиц диоксида церия

Мышкина Александра Владимировна

Бажукова Ирина Николаевна

Уральский федеральный университет

Соковнин Сергей Юрьевич

a.v.myshkina@mail.ru

Как ранее было замечено, наночастицы, благодаря различным способам получения, могут приобретать всевозможные свойства, которые могут быть использованы во многих отраслях науки и техники, в том числе в медицине и биологии. Наночастицы из многих материалов могут быть использованы в онкологии, целевой доставки лекарств, стерилизации, в качестве радиосенсибилизаторов, радиопротекторов, МРТ-контрастеров и многих других областях медицины. Как известно, кислород и активные формы кислорода играют определяющую роль в развитии опухоли. Внутриклеточные ферменты способны регулировать генерацию или связывание АФК. Наночастицы диоксида церия обладают ферментоподобной активностью в зависимости от свойств, определяемых способом получения. Данная ферментоподобная активность наночастиц диоксида церия определяется его способностью вступать в окислительно-восстановительные реакции, которые можно описать с помощью реакции Фентона. Скорость вступления в ОВР определяется соотношением ионов церия Ce^{3+} и Ce^{4+} на поверхности наночастиц и свойствами окружающей среды, в частности кислотностью. Как известно, опухолевые и здоровые клетки имеют разную кислотность. Здоровые клетки имеют нормальную кислотность ($\text{pH} = 7$), для опухолевых клеток это значение сдвинуто в кислотную область. В этом случае можно использовать наночастицы диоксида церия в опухолевой терапии.

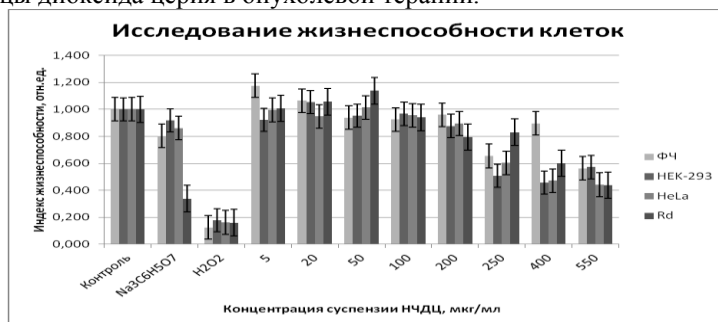


рис.1. Результаты исследования жизнеспособности здоровых и опухолевых клеток

Нами были использованы наночастицы диоксида церия, полученные методом испарения электронным пучком. Данные наночастицы имеют размер порядка 5 нм, но в среде образуют агрегаты размером 300 нм. Наночастицы стабилизировались цитратом натрия и обрабатывались ультразвуком. Клетки линий HeLa, рабдомиосаркомы (опухолевые), HEK-293 и фибробластов человека (здоровые) инкубировались с суспензией наночастиц в течение 72 часов, затем исследовалась их жизнеспособность с помощью МТТ-теста (рис.1). В результате получили, что при концентрациях порядка 250 мкг/мл оказывает токсическое влияние на опухолевые клетки, при этом нормальные клетки не испытывали значительного влияния. При концентрациях до 100 мкг/мл не наблюдалось влияния ни на какие клетки. При достижении концентрации 450 мкг/мл погибали клетки всех четырех линий.

Моделирование реакции Фентона в биоэлектрохимическом эксперименте

Никитина Елена Сергеевна

Удмуртский государственный университет

Черенков Иван Анатольевич, к.б.н.

elenanikitina.94@mail.ru

Согласно современному определению, окислительный стресс – это дисбаланс между оксидантами и антиоксидантами в пользу оксидантов, ведущий к нарушению редокс-сигналикации и контроля и/или повреждению макромолекул [4]. Для моделирования окислительного стресса возможно использование реакции Фентона (РФ), которая является супероксид-генерирующей и позволяет определять анти- и прооксидантные свойства биологических материалов. Реакция Фентона интересна тем, что в ней генерируется самый сильный окислитель — гидроксильный радикал $\text{OH}\cdot$, способный окислять любое органическое вещество. [1].

Целью настоящей работы стало моделирование реакции Фентона в электрохимической ячейке и оценка влияния на вольтамперные характеристики данного процесса плазмы крови. Для проведения экспериментов использовали планарные электроды производства ООО «Автоком» (Москва, Россия), сформированные по

трёхэлектродной схеме: рабочий электрод и вспомогательный электрод – графитовые, электрод сравнения – хлорсеребряный (ХСЭ). Электрохимические измерения производили на потенциостате-микроамперметре EcoLab 2A-100 ООО «Эковектор» (Ижевск, Россия). Результаты измерений записывали в виде файла .txt. Дальнейшую обработку первичных данных, построение кривых и статистическую обработку проводили средствами программ MS Excel 2007-2010.

При моделировании реакции Фентона использовались следующие реактивы: раствор FeSO_4 в концентрации 10^{-3} М, раствор пероксида водорода в концентрации 10^{-3} М, кислую среду для растворов железа формировали путем добавления серной кислоты. Методические аспекты проведения реакции и оптимизации её условий подробно описаны в статье Ивановой И.П. и соавт. [1]. На графитовом электроде при добавлении всех компонентов реакционной смеси формируются характерные вольтамперные кривые (рис. 1А). На первом цикле развертки наблюдается выраженный пик необратимого восстановления с максимумом при потенциале -250 мВ (относительно Ag/AgCl). Значения токов восстановления по мере прохождения циклов снижаются, стабилизируясь на 3-4 циклах, достигая значения $\approx 0,3$ мкА. Продуктом окисления перекиси водорода в реакции Фентона являются ионы железа Fe^{3+} :



Вероятно, именно восстановление железа на электроде, формирует характерный пик на вольтамперной кривой (рис. 1А).

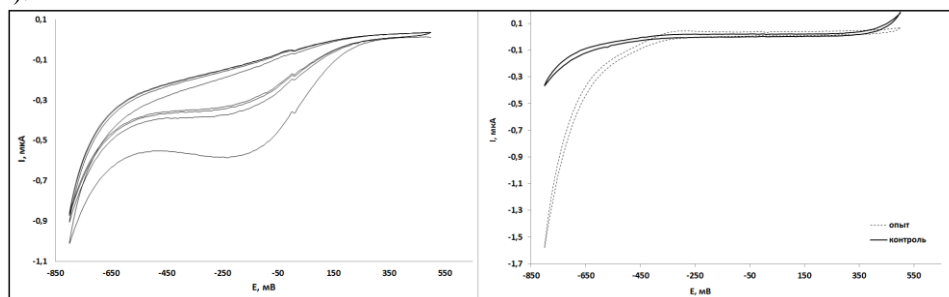


рис.1. Вольтамперные кривые, полученные на планарном графитовом электроде при проведении реакции Фентона. А – реакционная смесь, Б – реакция Фентона с добавлением плазмы крови (фон – плазма крови без компонентов реакционной смеси).

Вторичными продуктами реакции являются радикалы HO_2^\bullet , $\text{O}_2^{\bullet-}$ и синглетный кислород $^1\text{O}_2$. Образование ион-радикала $\text{O}_2^{\bullet-}$ обеспечивает протекание обратной реакции:



которая может выступать конкурирующим процессом, снижающим эффективность электровосстановления Fe^{3+} , что отражается в снижении пиковых значений силы тока [1, 2]. Плазма крови, внесенная в ячейку при проведении реакции Фентона, существенно влияет на качественные и количественные характеристики вольтамперных кривых. Результирующие токи восстановления в диапазоне -400 мВ...-800 мВ резко растут, превышая фоновые (в среде фосфатно-солевого буфера) значения более чем в 4 раза (рис. 1Б). Присутствие плазмы крови приводит к сдвигу значений результирующих токов в сторону более отрицательных значений.

В качестве возможных факторов, определяющих изменения вольтамперных кривых при проведении РФ в присутствии плазмы крови можно отметить сорбционные взаимодействия ионов железа с белковыми компонентами плазмы, наличие в плазме крови компонентов антиоксидантной защиты (например, аскорбиновая кислота: ее концентрация в плазме крови составляет 0,1 мМ, что сопоставимо с концентрациями реагентов, использованных в модели) [3]. Возможно изменение локальной концентрации реакционных компонентов вследствие сорбции компонентов плазмы крови на поверхность электрода. Исследованная модель может быть использована для исследования окислительно-антиоксидантного гомеостаза биологических жидкостей и оценки антиоксидантной способности лекарственных препаратов.

Работа выполнена при поддержке представительства «Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» в Удмуртской республике, программа «УМНИК».

Список публикаций:

- [1]Иванова И.П., Трофимова С.В., Пискарев И.М. //Современные технологии в медицине. 2014. Т. 6. № 4. С. 14-25.
- [2]Костюк В.А. Биорадикалы и антиоксиданты. Минск: БГУ, 2004. – 179 с.
- [3]Мартинюк Г.Г., Черенкевич С.Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках: Монография.– Мн.: БГУ, 2008.- с. 159: ил
- [4]Черенкевич С.Н., Мартинюк Г.Г., Мартинюк И.В., Голубева Е.Н. //Журнал ГрГМУ, 2009, №2, с. 9-11